

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur: l'ADMINISTRATION CHARGÉE DE  
L'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

Destinataire:

GROSSET-FOURNIER, Chantal  
Grosset-Fournier & Demachy S.A.R.L.  
103, rue La Fayette  
F-75481 Paris Cedex 10  
FRANCE

17. SEP. 1998

PCT

OPINION ECRITE

(règle 66 du PCT)

Date d'expédition  
(jour/mois/année)

15. 09. 98

Référence du dossier du déposant ou du mandataire  
WOB96 IDM HIS

DELAÏ DE REPONSE 3 mois à compter  
de la date d'expédition indiquée ci-dessus

Demande internationale n°

PCT/FR97/02022

Date du dépôt international (jour/mois/année)

10/11/1997

Date de priorité (jour/mois/année)

15/11/1996

Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB

C12N15/88

Déposant

I.D.M. et al.

1. La présente opinion écrite est la **première** opinion de cette nature rédigée par l'administration chargée de l'examen préliminaire international.

2. La présente opinion contient des indications et les pages correspondantes relatives aux points suivants:

- I ☒ Base de l'opinion
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon la règle 66.2(a)(ii) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

3. Le déposant est invité à répondre à la présente opinion.

**Quand?** Voir le délai indiqué plus haut. Le déposant peut, avant l'expiration de ce délai, en demander la prorogation à l'administration chargée de l'examen préliminaire international, voir la règle 66.2.d).

**Comment?** En présentant une réponse par écrit, accompagnée, le cas échéant, de modifications, conformément à la règle 66.3. Pour la forme et la langue des modifications, voir les règles 66.8. et 66.9.

**En outre:** Pour une possibilité additionnelle de présenter des modifications, voir la règle 66.4. Pour l'obligation faite à l'examineur de prendre en considération des modifications ou des arguments, voir la règle 66.4 bis. Pour une communication officielle avec l'examineur, voir la règle 66.6.

**En l'absence de réponse,** le rapport d'examen préliminaire international sera établi sur la base de la présente opinion.

4. La date limite d'établissement du rapport d'examen préliminaire international conformément à la règle 69.2 est le: 15/03/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:



Office européen des brevets  
D-80298 Munich  
Tel. (+49-89) 2399-0. Tx: 523656 epmu d  
Fax: (+49-89) 2399-4465

Fonctionnaire autorisé / Examineur  
Pilât, D

Agent des formalités (y compris prolongation de délais)  
Heisel, M  
N° de téléphone (+49-89) 2399-8051





EPA/EPO/OEB  
D-80298 München  
(089) 2399-0  
TX 523 656 epmu d  
FAX (089) 2399-4465

Europäisches  
Patentamt

Generaldirektion 2

European  
Patent Office

Directorate General 2

Office européen  
des brevets

Direction Générale 2

## Correspondance avec l'OEB en ce qui concerne les demandes PCT, chapitre II

Pour être sûr que votre demande PCT, chapitre II, sera traitée aussi vite que possible, vous êtes priés d'utiliser les étiquettes autocollantes ci-jointes avec le courrier relatif à la demande envoyé à l'Office à Munich.

Une de ces étiquettes devrait être apposée à un endroit bien visible, à la partie supérieure de l'en-tête de la lettre ou du formulaire etc. que vous déposez.

comme entièrement facultatives.

- 4.2 Les revendications 6 et 12 tentent de définir les résidus substituant les amines libres uniquement par une fonction de déstabilisation. Une telle caractérisation n'est pas claire, car elle ne permet pas d'identifier de manière précise les résidus qui satisfont à cette fonction et ceux qui n'y satisfont pas. Le demandeur est donc prié d'ajouter les caractéristiques techniques qui définissent un tel résidu afin de satisfaire aux conditions de clarté des revendications requises à l'article 6 PCT.
- 4.3 La revendication 1 utilise l'expression "faiblement acide". Eu égard aux Directives PCT, C-III, 4.5, la portée exacte de cette caractéristique est équivoque. La revendication n'est donc pas claire.

**5) Modifications (Articles 34 (2)(b) et 19(2) PCT)**

Il est signalé au demandeur que la demande ne peut être modifiée de manière que son objet s'étende au-delà du contenu de la demande telle qu'elle a été déposée Article 19(2)/Article 34(2)(b) PCT.

Afin de faciliter l'examen de conformité au regard des dispositions de l'article 34(2) b) PCT des pièces modifiées de la demande, le demandeur est invité à identifier clairement les modifications apportées, qu'il s'agisse de modifications par adjonction, remplacement ou suppression et à préciser sur quels passages de la demande telle que déposée ces modifications sont basées (cf. également règle 66.8 a) PCT).

Ces modifications pourront, le cas échéant, être portées sous forme manuscrite sur une copie des parties concernées de la demande telle que déposée.

comportant un noyau imidazole (revendication 7 et 8), sont toutes des revendications qui ne contiennent aucune caractéristique qui définisse un objet qui satisfasse aux exigences du PCT en ce qui concerne l'activité inventive. En effet, le complexe non inventif décrit ci-dessus (voir point 3.1 ci-dessus) prive les revendications 2 à 5 d'activité inventive.

En outre, le document D1 mentionne que le complexe peut être substitué par un signal de reconnaissance (voir D1, revendication 4), que le polymère comprend une formule (i) et (II) (voir D1, revendications 6 et 8). Ces modes de réalisations rendent donc les présentes revendications 6 à 8 évidentes.

- 3.3 La sélection des signaux de reconnaissance, la sélection d'acides nucléiques et la sélection des paramètres qui définissent le polymère, par exemple le rapport de substitution des  $\text{NH}_3^+$  libres des motifs lysines, la sélection de la masse moléculaire de l'acide nucléique et du nombre moyen de paires de base de l'acide nucléique par molécule de motif de monomère, sont des choix que la personne du métier aurait effectué selon le cas d'espèce (voir D1 revendications 11-13). Les revendications 9-11 ne comprennent donc pas d'activité inventive, à moins que le demandeur ne démontre que ces sélections sont associés à des effets inattendus.
- 3.4 Les utilisations, la méthode de transfection, la composition pharmaceutique ou le kit sont des applications connues dans l'art antérieur (voir D1, revendications 16 à 21). L'utilisation d'un complexe non inventif (voir points 3.1 à 3.3 ci-dessus) en remplacement du complexe décrit dans le document D1 n'implique par conséquent aucune activité inventive. Les revendications 14-19 sont donc évidentes.

#### ***Section VIII : Observations relatives à la demande internationale***

#### **4) Clarté (Article 6 PCT)**

- 4.1 Il est signalé à la demanderesse que les expressions "de préférence", "par exemple", "tels que", "du genre de", "avantageusement", "notamment", "peuvent", "pouvant être", "éventuel" ou "éventuellement" n'ont pas d'effet limitatif sur la portée d'une revendication. Les caractéristiques qui suivent ou précèdent (pour l'expression "éventuel(lement)") une telle expression sont donc considérées

Ce phénomène de fusion est certainement lié au caractère polycationique de la polyhistidine à pH acide et à l'association de ce polycation avec les phospholipides membranaires qui induit une séparation de phase de la bicouche lipidique (voir D3, résumé). D3 mentionne aussi que le comportement fusiogène associé à la polyhistidine à pH réduit est plus efficace que celui associé au  $\text{Ca}^{2+}$  ou à la polylysine. En effet, un rapport de charge de seulement 0,2 ou inférieur entre la polyhistidine et le liposome permet de garantir une fusion efficace, alors qu'il doit excéder 0,7 pour le  $\text{Ca}^{2+}$  et être d'environ 1 pour la polylysine (voir p.4414 col.2 dernière phrase- p.4415 col.1 ligne 13; table IV). Enfin et surtout, ce document suggère que si l'interaction de segments hydrophobiques des glycoprotéines de l'enveloppe virale est une étape importante de la fusion, la protonation des résidus d'histidine des protéines virales à pH acide peut être une autre moyen de fusion (voir p.4415 dernier paragraphe).

Afin de résoudre le problème mentionné ci-dessus, l'homme du métier aurait évidemment combiné les enseignements de D1 et D3 et aurait donc substitué le polymère décrit dans D1 par des résidus histidines, à la place des résidus non chargés, et serait donc arrivé à la solution proposée dans la revendication 1 de la présente demande. Cette revendication 1 n'est donc pas inventive.

Le demandeur est prié de noter que les options introduites dans cette même revendication 1, c-à-d le rapport de substitution, la substitution des  $\text{NH}_3^+$  libres par des résidus non chargés qui possèdent au moins un groupe hydroxyle et éventuellement un signal de reconnaissance, sont des modes de réalisation que l'homme du métier aurait certainement envisagé selon les circonstances (voir aussi D1 revendication 1).

- 3.2 Les revendications 2-8 qui se rapportent à l'objet que la présente revendication 1, ayant des résidus protonables avec un pK inférieur à 8 (revendication 2), ayant des résidus qui appartiennent à la famille des composés qui comportent un noyau imidazole, à la famille de quinolines, des ptérines, pyridines (revendication 3), ayant des résidus qui sont des alkylimidazole (revendication 4), ayant des résidus choisis parmi l'histidines et dérivés imidazoles, (revendication 5), ayant des susdits motifs monomères ayant des fonctions  $\text{NH}_3^+$  libres substituées par un signal de reconnaissance (revendication 6), ayant un polymère qui contient une formule (I) ou une formule (II) et le groupement R représentant un résidu

1 Il est fait référence aux documents suivants:

D1 FR-A-2719316

D2 Mezö G. et al. Biopolymers, vol.33, n°6 1993, p.873-85

D3 Wang C. Y. et al. Vol.23 n°19, 1984, p.4409-16

**Section V: *Déclaration motivée selon la règle 66.2(a)(ii) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration***

**2) Nouveauté (Article 33 (2) PCT)**

2.1 D2 mentionne l'utilisation de Poly[Lys-(His)] (voir table I et Fig.1). Ce polymère anticipe le conjugué polymérique des présentes revendications 12 et 13.

**3) Activité inventive (Article 33 (3) PCT)**

3.1 Le document D1 est considéré comme l'état de la technique le plus proche.

Il décrit un complexe entre au moins un acide nucléique chargé négativement et au moins un conjugué polymérique chargé positivement. Le conjugué polymérique contient un polymère de motifs monomères portant des fonctions  $\text{NH}_3^+$  libres. Ces fonctions  $\text{NH}_3^+$  libres sont substituées dans un rapport d'au moins 10% par des résidus non chargés. Ces résidus comprennent au moins un groupe hydroxyles et ne correspondent à aucun signal de reconnaissance reconnu par un récepteur membranaire cellulaire (voir D1, revendication 1).

La différence entre D1 et l'objet de la présente revendication 1 est que ladite revendication se rapporte à des résidus protonables en milieu faiblement acide qui en sus comportent un groupe fonctionnel qui leur permet d'être fixés au polymère et ne doivent pas être reconnus par un récepteur membranaire cellulaire.

Le problème que se propose de résoudre la présente invention peut être celui de trouver un moyen alternatif à la chloroquine ou aux peptides perméabilisant de protéger le produit de transfection d'une dégradation lysosomale après endocytose.

D3 décrit les propriétés fusiogènes de la polyhistidine par rapport aux liposomes.

**2. Citations et explications**

**voir feuille séparée**

**VIII. Observations relatives à la demande internationale**

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

**voir feuille séparée**

**I. Base de l'opinion**

1. Cette opinion a été rédigée sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans la présente opinion, comme "initialement déposées".*) :

**Description, pages:**

1-49 version initiale

**Revendications, N°:**

1-19 version initiale

**Dessins, feuilles:**

1/9-9/9 version initiale

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :  
☐ des revendications, n°s :  
☐ des dessins, feuilles :

3. La présente opinion a été formulée abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

**V. Déclaration motivée selon la règle 66.2(a)(ii) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

**1. Déclaration**

Nouveauté (N)	Revendications	Non 12,13
Activité inventive (IS)	Revendications	Non 1-11,14-19
Possibilité d'application industrielle (IA)	Revendications	



# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

## PCT

### RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire <b>WOB96 IDM HIS</b>	<b>POUR SUITE</b> voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après <b>A DONNER</b>	
Demande internationale n° <b>PCT/FR 97/02022</b>	Date du dépôt international (jour/mois/année) <b>10/11/1997</b>	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) <b>15/11/1996</b>
Déposant  <b>I.D.M. et al.</b>		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 3 feuilles.

☒ Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. ☐ Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

2. ☐ Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

3. ☐ La demande internationale contient la divulgation d'un listage de séquence de nucléotides ou d'acides aminés et la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage de séquence

☐ déposé avec la demande internationale

☐ fourni par le déposant séparément de la demande internationale

☐ sans être accompagnée d'une déclaration selon laquelle il n'inclut pas d'éléments allant au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle qu'elle a été déposée.

☐ transcrit par l'administration

4. En ce qui concerne le titre, ☐ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.

☒ Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

**NOUVEAUX COMPLEXES POLYMERIQUES POUR LA TRANSFECTION D'ACIDES NUCLEIQUES, AVEC DES RESIDUS DESTABILISANT LES MEMBRANES CELLULAIRES.**

5. En ce qui concerne l'abrégé,

☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant

☐ le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure des dessins à publier avec l'abrégé est la suivante:

Figure n°            ☐ suggérée par le déposant.

☐ parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.

☐ parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

☒ Aucune des figures n'est à publier.

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 6 C12N15/88 A61K48/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C12N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	FR 2 719 316 A (IDM IMMUNO-DESIGNED - MOLECULES) 3 novembre 1995 cité dans la demande	1-8
A	voir le document en entier	9,10,12, 14-19
X	--- MEZÖ G. ET AL.: "Carrier design: conformational studies of amino acid (X) and oligopeptide (X-DL-Ala-m) substituted poly(L-lysine)." BIOPOLYMERS, vol. 33, no. 6, 1993, pages 873-885, XP002034603 - voir le document en entier --- -/-	12

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

3 avril 1998

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

16.04.98

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Panzica, G

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WANG C. Y. ET AL: "POLYHISTIDINE MEDIATES AN ACID-DEPENDENT FUSION OF NEGATIVELY CHARGED LIPOSOMES" BIOCHEMISTRY, vol. 23, no. 19, 1984, pages 4409-4416, XP002016041 + cité dans la demande voir page 4410, colonne 1, alinéa 2 voir page 4413, colonne 1, alinéa 2 - page 4415, colonne 2, alinéa 1 ---	1-8
A	MIDOUX P ET AL: "SPECIFIC GENE TRANSFER MEDIATED BY LACTOSYLATED POLY-L-LYSINE INTO HEPATOMA CELLS" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 21, no. 4, 25 février 1993, pages 871-878, XP000371764 - cité dans la demande voir le document en entier ---	1,9,10, 12
Y		7
A	WO 92 13570 A (BOEHRINGER INGELHEIM INT + INC.; GENENTECH INC (US)) 20 août 1992  voir abrégé * exemples * * revendications * ---	1,2,4, 10,12, 14,15,18
A	EP 0 387 775 A (BOEHRINGER INGELHEIM + INTERNATIONAL INC.) 19 septembre 1990 voir exemple 6 ---	10,14-16
A	EP 0 388 758 A (BOEHRINGER INGELHEIM + INTERNATIONAL INC.) 26 septembre 1990 voir abrégé voir page 2, ligne 37 - page 5, ligne 17 ---	1,5,9, 10,15,16
A	US 5 166 320 A (WU GEORGE Y. ET AL) 24 - novembre 1992 voir le document en entier ---	1,3,4, 9-11
A	WO 92 11037 A (ADVANCED MAGNETICS INC) 9 + juillet 1992 ---	2,3,9-15
A	FR 2 107 756 A (HOFFMANN-LA ROCHE & CIE - SOCIETE ANONYME) 5 mai 1972 ---	6,7,11
A	EP 0 350 246 A (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES - LTD) 10 janvier 1990 -----	16

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Denomination internationale No  
PCT/FR 97/02022

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2719316 A	03-11-95	AU 2412895 A	29-11-95
		CA 2187629 A	09-11-95
		EP 0753070 A	15-01-97
		WO 9530020 A	09-11-95
		US 5595897 A	21-01-97
-----			
WO 9213570 A	20-08-92	DE 4104186 A	13-08-92
		AT 142890 T	15-10-96
		DE 59207189 D	24-10-96
		EP 0571414 A	01-12-93
		ES 2094342 T	16-01-97
		JP 6504993 T	09-06-94
-----			
EP 0387775 A	19-09-90	AT 140961 T	15-08-96
		AU 637354 B	27-05-93
		AU 5130190 A	01-11-90
		CA 2012312 A	16-09-90
		DE 59010432 D	05-09-96
		ES 2090049 T	16-10-96
		HU 9500692 A	28-12-95
		IE 74850 B	13-08-97
		IL 93754 A	31-12-95
		JP 3130080 A	03-06-91
		NZ 232917 A	27-07-97
		PT 93440 A	07-11-90
-----			
EP 0388758 A	26-09-90	AU 637085 B	20-05-93
		AU 5137290 A	20-09-90
		CA 2012311 A	16-09-90
		HU 9500693 A	29-01-96
		IL 93755 A	31-12-95
		JP 3200800 A	02-09-91
		NO 301932 B	29-12-97
		NZ 232918 A	27-07-97
		PT 93441 A,B	07-11-90
		RU 2098487 C	10-12-97
US 5354844 A	11-10-94		
-----			
US 5166320 A	24-11-92	US 5635383 A	03-06-97
		JP 63269985 A	08-11-88

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De l'Organisation Internationale No  
PCT/FR 97/02022

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9211037 A	09-07-92	AT 151991 T	15-05-97
		CA 2097589 A	20-06-92
		DE 69125848 D	28-05-97
		DE 69125848 T	31-07-97
		DE 563249 T	03-03-94
		EP 0563249 A	06-10-93
		ES 2059299 T	16-11-94
		JP 6503347 T	14-04-94
		US 5490991 A	13-02-96
		US 5554386 A	10-09-96
		US 5589591 A	31-12-96
		US 5478576 A	26-12-95
		US 5336506 A	09-08-94
FR 2107756 A	05-05-72	BE 772660 A	16-03-72
		DE 2146155 A	23-03-72
		GB 1316990 A	16-05-73
		NL 7112808 A	21-03-72
		US 3759890 A	18-09-73
EP 0350246 A	10-01-90	CA 1339300 A	19-08-97
		DE 68907139 T	02-12-93
		ES 2055067 T	16-08-94
		HU 9500499 A	30-10-95
		JP 2124814 A	14-05-90
		US 5271945 A	21-12-93

INSTITUT NATIONAL

de la

PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE  
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la rechercheFA 535719  
FR 9613990

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
Y,D	FR 2 719 316 A (IDM IMMUNO-DESIGNED - MOLECULES) 3 Novembre 1995	1-8
A	* le document en entier *	9,10,12, 14-19
X	--- BIOPOLYMERS, vol. 33, no. 6, 1993, pages 873-885, XP002034603 * MEZŐ G. ET AL.: "Carrier design: conformational studies of amino acid (X) and oligopeptide (X-DL-Ala-m) substituted poly(L-lysine)." * le document en entier *	12
Y,D	BIOCHEMISTRY, vol. 23, no. 19, 1984, pages 4409-4416, XP002016041 * WANG C. Y. ET AL: "POLYHISTIDINE MEDIATES AN ACID-DEPENDENT FUSION OF NEGATIVELY CHARGED LIPOSOMES" * page 4410, colonne 1, alinéa 2 * * page 4413, colonne 1, alinéa 2 - page 4415, colonne 2, alinéa 1 *	1-8
A,D	NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 21, no. 4, 25 Février 1993, pages 871-878, XP000371764 * MIDOUX P ET AL: "SPECIFIC GENE TRANSFER MEDIATED BY LACTOSYLATED POLY-L-LYSINE INTO HEPATOMA CELLS" * le document en entier *	1,9,10, 12
Y	---	7
A	WO 92 13570 A (BOEHRINGER INGELHEIM INT * INC.; GENENTECH INC (US)) 20 Août 1992  * abrégé * * exemples * * revendications *	1,2,4, 10,12, 14,15,18
---		
-/-		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
8 Juillet 1997		Panzica, G
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
T : théorie ou principe à la base de l'invention		
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure		
à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date		
de dépôt ou qu'à une date postérieure.		
D : cité dans la demande		
L : cité pour d'autres raisons		
-----		
& : membre de la même famille, document correspondant		

EPO FORM 1503 03.82 (P04C13)

RAPPORT DE RECHERCHE  
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la rechercheN° d'enregistrement  
nationalFA 535719  
FR 9613990

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
A	EP 0 387 775 A (BOEHRINGER INGELHEIM < INTERNATIONAL INC.) 19 Septembre 1990 * exemple 6 *	10,14-16
A	EP 0 388 758 A (BOEHRINGER INGELHEIM < INTERNATIONAL INC.) 26 Septembre 1990 * abrégé * * page 2, ligne 37 - page 5, ligne 17 *	1,5,9, 10,15,16
A	US 5 166 320 A (WU GEORGE Y. ET AL) 24 < Novembre 1992 * le document en entier *	1,3,4, 9-11
A	WO 92 11037 A (ADVANCED MAGNETICS INC) 9 < Juillet 1992	2,3,9-15
A	FR 2 107 756 A (HOFFMANN-LA ROCHE & CIE < SOCIETE ANONYME) 5 Mai 1972	6,7,11
A	EP 0 350 246 A (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD) 10 Janvier 1990 <	16
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
8 Juillet 1997		Panzica, G
<b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b>		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ..... & : membre de la même famille, document correspondant		

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRELIMINAIRE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO.**

FA 535719  
FR 9613990

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.  
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets,  
ni de l'Administration française

08-07-1997

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2719316 A	03-11-95	AU 2412895 A	29-11-95
		CA 2187629 A	09-11-95
		EP 0753070 A	15-01-97
		WO 9530020 A	09-11-95
		US 5595897 A	21-01-97
WO 9213570 A	20-08-92	DE 4104186 A	13-08-92
		AT 142890 T	15-10-96
		DE 59207189 D	24-10-96
		EP 0571414 A	01-12-93
		ES 2094342 T	16-01-97
		JP 6504993 T	09-06-94
EP 0387775 A	19-09-90	AT 140961 T	15-08-96
		AU 637354 B	27-05-93
		AU 5130190 A	01-11-90
		CA 2012312 A	16-09-90
		DE 59010432 D	05-09-96
		ES 2090049 T	16-10-96
		HU 9500692 A	28-12-95
		IL 93754 A	31-12-95
		JP 3130080 A	03-06-91
EP 0388758 A	26-09-90	AU 637085 B	20-05-93
		AU 5137290 A	20-09-90
		CA 2012311 A	16-09-90
		HU 9500693 A	29-01-96
		IL 93755 A	31-12-95
		JP 3200800 A	02-09-91
		PT 93441 B	31-01-97
		US 5354844 A	11-10-94
US 5166320 A	24-11-92	US 5635383 A	03-06-97
		JP 63269985 A	08-11-88
WO 9211037 A	09-07-92	AT 151991 T	15-05-97
		CA 2097589 A	20-06-92
		DE 69125848 D	28-05-97
		DE 563249 T	03-03-94
		EP 0563249 A	06-10-93

EPO FORM P0465



**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRELIMINAIRE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO.**

FA 535719  
FR 9613990

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.  
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets,  
ni de l'Administration française

08-07-1997

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9211037 A		ES 2059299 T	16-11-94
		JP 6503347 T	14-04-94
		US 5490991 A	13-02-96
		US 5554386 A	10-09-96
		US 5589591 A	31-12-96
		US 5478576 A	26-12-95
		US 5336506 A	09-08-94
-----			
FR 2107756 A	05-05-72	BE 772660 A	16-03-72
		DE 2146155 A	23-03-72
		GB 1316990 A	16-05-73
		NL 7112808 A	21-03-72
		US 3759890 A	18-09-73
-----			
EP 0350246 A	10-01-90	DE 68907139 T	02-12-93
		ES 2055067 T	16-08-94
		HU 9500499 A	30-10-95
		JP 2124814 A	14-05-90
		US 5271945 A	21-12-93
-----			

EPO FORM P0463

EPO FORM P0465

## TRAITÉ DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS

163  
No Locative  
definition

PCT

NOTIFICATION CONCERNANT LA  
TRANSMISSION DE DOCUMENTS

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

United States Patent and Trademark  
Office  
(Box PCT)  
Crystal Plaza 2  
Washington, DC 20231  
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

en sa qualité d'office élu

09/297519  
Date d'expédition (jour/mois/année)

02 juin 1999 (02.06.99)

Demande internationale no

PCT/FR97/02022

Date du dépôt international

10 novembre 1997 (10.11.97)

Déposant

I.D.M. IMMUNO-DESIGNED MOLECULES etc

Le Bureau international transmet ci-joint le nombre de copies indiqué ci-après des documents suivants:

\_\_\_\_\_ copie de la traduction en langue anglaise du rapport d'examen préliminaire international (article 36.3)a))

Bureau international de l'OMPI  
34, chemin des Colombettes  
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé

R. Forax

no de téléphone: (41-22) 338.83.38

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

## NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

United States Patent and Trademark  
Office  
(Box PCT)  
Crystal Plaza 2  
Washington, DC 20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année) 01 juillet 1998 (01.07.98)	
Demande internationale no PCT/FR97/02022	Référence du dossier du déposant ou du mandataire WOB96 IDM HIS
Date du dépôt international (jour/mois/année) 10 novembre 1997 (10.11.97)	Date de priorité (jour/mois/année) 15 novembre 1996 (15.11.96)
Déposant MIDOUX, Patrick etc	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:



dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

12 juin 1998 (12.06.98)



dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection



a été faite



n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI  
34, chemin des Colombettes  
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé

N. Masson

no de téléphone: (41-22) 338.83.38

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur: L'ADMINISTRATION CHARGÉE DE  
L'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

Destinataire:

GROSSET-FOURNIER, Chantal  
Grosset-Fournier & Demachy S.A.R.L.  
103, rue La Fayette  
F-75481 Paris Cedex 10  
FRANCE

**GROSSET FOURNIER  
& DEMACHY**  
**18. FEV. 1999**  
**REÇU**

## PCT

NOTIFICATION DE TRANSMISSION DU  
RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE  
INTERNATIONAL  
(règle 71.1 du PCT)

Date d'expédition  
(jour/mois/année)

**1-5. 02. 99**

Référence du dossier du déposant ou du mandataire  
**WOB96 IDM HIS**

**NOTIFICATION IMPORTANTE**

Demande internationale No.  
**PCT/FR97/02022**

Date du dépôt international (jour/mois/année)  
**10/11/1997**

Date de priorité (jour/mois/année)  
**15/11/1996**

Déposant  
**I.D.M. et al.**

1. Il est notifié au déposant que l'administration chargée de l'examen préliminaire international a établi le rapport d'examen préliminaire international pour la demande internationale et le lui transmet ci-joint, accompagné, le cas échéant, de ces annexes.
2. Une copie du présent rapport et, le cas échéant, de ses annexes est transmise au Bureau international pour communication à tous les offices élus.
3. Si tel ou tel office élu l'exige, le Bureau international établira une traduction en langue anglaise du rapport (à l'exclusion des annexes de celui-ci) et la transmettra aux offices intéressés.

#### 4. RAPPEL

Pour aborder la phase nationale auprès de chaque office élu, le déposant doit accomplir certains actes (dépôt de traduction et paiement des taxes nationales) dans le délai de 30 mois à compter de la date de priorité (ou plus tard pour ce qui concerne certains offices) (article 39.1) (voir aussi le rappel envoyé par le Bureau international dans le formulaire PCT/IB/301).

Lorsqu'une traduction de la demande internationale doit être remise à un office élu, elle doit comporter la traduction de toute annexe du rapport d'examen préliminaire international. Il appartient au déposant d'établir la traduction en question et de la remettre directement à chaque office élu intéressé.

Pour plus de précisions en ce qui concerne les délais applicables et les exigences des offices élus, voir le Volume II du Guide du déposant du PCT.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international



Office européen des brevets  
D-80298 Munich  
Tél. (+49-89) 2399-0, Tx: 523656 epmu d  
Fax: (+49-89) 2399-4465

Fonctionnaire autorisé

Heisel, M

Tél. (+49-89) 2399-8051



# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

## PCT

### RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)


Référence du dossier du déposant ou du mandataire <b>WOB96 IDM HIS</b>	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° <b>PCT/FR97/02022</b>	Date du dépôt international (jour/mois/année) <b>10/11/1997</b>	Date de priorité (jour/mois/année) <b>15/11/1996</b>
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB <b>C12N15/88</b>		
Déposant <b>I.D.M. et al.</b>		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 7 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
  - ☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent    feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I    ☒ Base du rapport
- II    ☐ Priorité
- III    ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV    ☐ Absence d'unité de l'invention
- V    ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI    ☐ Certains documents cités
- VII    ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII    ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale <b>12/06/1998</b>	Date d'achèvement du présent rapport <b>15.02.99</b>
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international   Office européen des brevets D-80298 Munich Tel. (+49-89) 2399-0. Tx: 523656 epmu d Fax: (+49-89) 2399-4465	Fonctionnaire autorisé  Pilat, D  N° de téléphone (+49-89) 2399-8668



l'expression "éventuel(lement)") une telle expression sont donc considérées comme entièrement facultatives.

4.2 Les revendications 6 et 12 tentent de définir les résidus substituant les amines libres uniquement par une fonction de déstabilisation. Une telle caractérisation n'est pas claire, car elle ne permet pas d'identifier de manière précise les résidus qui satisfont à cette fonction et ceux qui n'y satisfont pas.

4.3 La revendication 1 utilise l'expression "faiblement acide". Eu égard aux Directives PCT, C-III, 4.5, la portée exacte de cette caractéristique est équivoque. La revendication n'est donc pas claire.

#### **5) Application industrielle (Article 33 (4) PCT)**

Il n'existe pas de critère unifié dans le PCT pour déterminer si les revendications 14,15 sont susceptibles d'application industrielle. La brevetabilité peut aussi dépendre de la manière dont les revendications ont été formulées. Ainsi, l'Office Européen des brevets ne considère pas comme susceptible d'application industrielle l'objet de revendications d'utilisation d'un composé à des fins médicales. Par contre, peuvent être acceptées des revendications relatives à un composé connu, pour une première utilisation à des fins médicales ainsi que des revendications relatives à l'utilisation d'un tel composé dans la fabrication d'un médicament en vue d'un nouveau traitement médical.

comportant un noyau imidazole (revendication 7 et 8), sont toutes des revendications qui ne contiennent aucune caractéristique qui définisse un objet qui satisfasse aux exigences du PCT en ce qui concerne l'activité inventive. En effet, le complexe non inventif décrit ci-dessus (voir point 3.1 ci-dessus) prive les revendications 2 à 5 d'activité inventive.

En outre, le document D1 mentionne que le complexe peut être substitué par un signal de reconnaissance (voir D1, revendication 4), que le polymère comprend une formule (i) et (II) (voir D1, revendications 6 et 8). Ces modes de réalisations rendent donc les présentes revendications 6 à 8 évidentes.

3.3 La sélection des signaux de reconnaissance, la sélection d'acides nucléiques et la sélection des paramètres qui définissent le polymère, par exemple le rapport de substitution des  $\text{NH}_3^+$  libres des motifs lysines, la sélection de la masse moléculaire de l'acide nucléique et du nombre moyen de paires de base de l'acide nucléique par molécule de motif de monomère, sont des choix que la personne du métier aurait effectué selon le cas d'espèce (voir D1 revendications 11-13). Les revendications 9-11 ne comprennent donc pas d'activité inventive, à moins que le demandeur ne démontre que ces sélections sont associés à des effets inattendus.

3.4 Les utilisations, la méthode de transfection, la composition pharmaceutique ou le kit sont des applications connues dans l'art antérieur (voir D1, revendications 16 à 21). L'utilisation d'un complexe non inventif (voir points 3.1 à 3.3 ci-dessus) en remplacement du complexe décrit dans le document D1 n'implique par conséquent aucune activité inventive. Les revendications 14-19 sont donc évidentes.

### ***Section VIII : Observations relatives à la demande internationale***

#### **4) Clarté (Article 6 PCT)**

4.1 Il est signalé à la demanderesse que les expressions "de préférence", "par exemple", "tels que", "du genre de", "avantageusement", "notamment", "peuvent", "pouvant être", "éventuel" ou "éventuellement" n'ont pas d'effet limitatif sur la portée d'une revendication. Les caractéristiques qui suivent ou précèdent (pour

Ce phénomène de fusion est certainement lié au caractère polycationique de la polyhistidine à pH acide et à l'association de ce polycation avec les phospholipides membranaires qui induit une séparation de phase de la bicouche lipidique (voir D3, résumé). D3 mentionne aussi que le comportement fusiogène associé à la polyhistidine à pH réduit est plus efficace que celui associé au  $\text{Ca}^{2+}$  ou à la polylysine. En effet, un rapport de charge de seulement 0,2 ou inférieur entre la polyhistidine et le liposome permet de garantir une fusion efficace, alors qu'il doit excéder 0,7 pour le  $\text{Ca}^{2+}$  et être d'environ 1 pour la polylysine (voir p.4414 col.2 dernière phrase- p.4415 col.1 ligne 13; table IV). Enfin et surtout, ce document suggère que si l'interaction de segments hydrophobiques des glycoprotéines de l'enveloppe virale est une étape importante de la fusion, la protonation des résidus d'histidine des protéines virales à pH acide peut être une autre moyen de fusion (voir p.4415 dernier paragraphe).

Afin de résoudre le problème mentionné ci-dessus, l'homme du métier aurait évidemment combiné les enseignements de D1 et D3 et aurait donc substitué le polymère décrit dans D1 par des résidus histidines, à la place des résidus non chargés, et serait donc arrivé à la solution proposée dans la revendication 1 de la présente demande. Cette revendication 1 n'est donc pas inventive.

Le demandeur est prié de noter que les options introduites dans cette même revendication 1, c-à-d le rapport de substitution, la substitution des  $\text{NH}_3^+$  libres par des résidus non chargés qui possèdent au moins un groupe hydroxyle et éventuellement un signal de reconnaissance, sont des modes de réalisation que l'homme du métier aurait certainement envisagé selon les circonstances (voir aussi D1 revendication 1).

- 3.2 Les revendications 2-8 qui se rapportent à l'objet que la présente revendication 1, ayant des résidus protonables avec un pK inférieur à 8 (revendication 2), ayant des résidus qui appartiennent à la famille des composés qui comportent un noyau imidazole, à la famille de quinolines, des ptérines, pyridines (revendication 3), ayant des résidus qui sont des alkylimidazole (revendication 4), ayant des résidus choisis parmi l'histidines et dérivés imidazoles, (revendication 5), ayant des susdits motifs monomères ayant des fonctions  $\text{NH}_3^+$  libres substituées par un signal de reconnaissance (revendication 6), ayant un polymère qui contient une formule (I) ou une formule (II) et le groupement R représentant un résidu



1 Il est fait référence aux documents suivants:

D1 FR-A-2719316

D2 Mezö G. et al. Biopolymers, vol.33, n°6 1993, p.873-85

D3 Wang C. Y. et al. Vol.23 n°19, 1984, p.4409-16

**Section V:** *Déclaration motivée selon la règle 66.2(a)(ii) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration*

**2) Nouveauté (Article 33 (2) PCT)**

2.1 D2 mentionne l'utilisation de Poly[Lys-(His<sub>i</sub>)] (voir table I et Fig.1). Ce polymère anticipe le conjugué polymérique des présentes revendications 12 et 13.

**3) Activité inventive (Article 33 (3) PCT)**

3.1 Le document D1 est considéré comme l'état de la technique le plus proche. Il décrit un complexe entre au moins un acide nucléique chargé négativement et au moins un conjugué polymérique chargé positivement. Le conjugué polymérique contient un polymère de motifs monomères portant des fonctions NH<sub>3</sub><sup>+</sup> libres. Ces fonctions NH<sub>3</sub><sup>+</sup> libres sont substituées dans un rapport d'au moins 10% par des résidus non chargés. Ces résidus comprennent au moins un groupe hydroxyles et ne correspondent à aucun signal de reconnaissance reconnu par un récepteur membranaire cellulaire (voir D1, revendication 1).

La différence entre D1 et l'objet de la présente revendication 1 est que ladite revendication se rapporte à des résidus protonables en milieu faiblement acide qui en sus comportent un groupe fonctionnel qui leur permet d'être fixés au polymère et ne doivent pas être reconnus par un récepteur membranaire cellulaire.

Le problème que se propose de résoudre la présente invention peut être celui de trouver un moyen alternatif à la chloroquine ou aux peptides perméabilisant de protéger le produit de transfection d'une dégradation lysosomale après endocytose.

D3 décrit les propriétés fusiogènes de la polyhistidine par rapport aux liposomes.

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR97/02022

**V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

**1. Déclaration**

Nouveauté	Oui : Revendications	
	Non : Revendications	12,13
Activité inventive	Oui : Revendications	
	Non : Revendications	1-11,14-19
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications	1-13,16-19
	Non : Revendications	14,15

**2. Citations et explications**

**voir feuille séparée**

**VIII. Observations relatives à la demande internationale**

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

**voir feuille séparée**

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR97/02022

**I. Base du rapport**

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après *(les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.)* :

**Description, pages:**

1-49                      version initiale

**Revendications, N°:**

1-19                      version initiale

**Dessins, feuilles:**

1/9-9/9                      version initiale

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description,      pages :  
☐ des revendications, n°s :  
☐ des dessins,              feuilles :

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

## PCT

### RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)



Référence du dossier du déposant ou du mandataire <b>WOB96 IDM HIS</b>	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° <b>PCT/FR97/02022</b>	Date du dépôt international (jour/mois/année) <b>10/11/1997</b>	Date de priorité (jour/mois/année) <b>15/11/1996</b>
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB <b>C12N15/88</b>		
Déposant <b>I.D.M. et al.</b>		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 7 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
  - ☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent    feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I    ☒ Base du rapport
- II    ☐ Priorité
- III    ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV    ☐ Absence d'unité de l'invention
- V    ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI    ☐ Certains documents cités
- VII    ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII    ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale <b>12/06/1998</b>	Date d'achèvement du présent rapport <b>15.02.99</b>
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international   Office européen des brevets D-80298 Munich Tel. (+49-89) 2399-0. Tx: 523656 epmu d Fax: (+49-89) 2399-4465	Fonctionnaire autorisé  Pilat, D  N° de téléphone (+49-89) 2399-8668 

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

## PCT

### RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire <b>WOB96 IDM HIS</b>	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après	
Demande internationale n° <b>PCT/FR 97/ 02022</b>	Date du dépôt international (jour/mois/année) <b>10/11/1997</b>	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) <b>15/11/1996</b>
Déposant  <b>I.D.M. et al.</b>		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 3 feuilles.

☒ Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. ☐ Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

2. ☐ Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

3. ☐ La demande internationale contient la divulgation d'un listage de séquence de nucléotides ou d'acides aminés et la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage de séquence

☐ déposé avec la demande internationale

☐ fourni par le déposant séparément de la demande internationale

☐ sans être accompagnée d'une déclaration selon laquelle il n'inclut pas d'éléments allant au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle qu'elle a été déposée.

☐ transcrit par l'administration

4. En ce qui concerne le titre, ☐ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.

☒ Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

**NOUVEAUX COMPLEXES POLYMERIQUES POUR LA TRANSFECTION D'ACIDES NUCLEIQUES, AVEC DES RESIDUS DESTABILISANT LES MEMBRANES CELLULAIRES.**

5. En ce qui concerne l'abrégé,

☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant

☐ le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure des dessins à publier avec l'abrégé est la suivante:

Figure n°            ☐ suggérée par le déposant.

☐ parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.

☐ parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

☒ Aucune des figures n'est à publier.

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 6 C12N15/88 A61K48/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C12N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	FR 2 719 316 A (IDM IMMUNO-DESIGNED MOLECULES) 3 novembre 1995 cité dans la demande	1-8
A	voir le document en entier	9,10,12, 14-19
X	--- MEZÖ G. ET AL.: "Carrier design: conformational studies of amino acid (X) and oligopeptide (X-DL-Ala-m) substituted poly(L-lysine)." BIOPOLYMERS, vol. 33, no. 6, 1993, pages 873-885, XP002034603 voir le document en entier --- -/-	12

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

3 avril 1998

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

16.04.98

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Panzica, G

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>WANG C. Y. ET AL: "POLYHISTIDINE MEDIATES AN ACID-DEPENDENT FUSION OF NEGATIVELY CHARGED LIPOSOMES" BIOCHEMISTRY, vol. 23, no. 19, 1984, pages 4409-4416, XP002016041 cité dans la demande voir page 4410, colonne 1, alinéa 2 voir page 4413, colonne 1, alinéa 2 - page 4415, colonne 2, alinéa 1</p>	1-8
A	<p>MIDOUX P ET AL: "SPECIFIC GENE TRANSFER MEDIATED BY LACTOSYLATED POLY-L-LYSINE INTO HEPATOMA CELLS" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 21, no. 4, 25 février 1993, pages 871-878, XP000371764 cité dans la demande</p>	1,9,10, 12
Y	<p>voir le document en entier</p>	7
A	<p>WO 92 13570 A (BOEHRINGER INGELHEIM INT. INC.; GENENTECH INC (US)) 20 août 1992</p> <p>voir abrégé * exemples * * revendications *</p>	1,2,4, 10,12, 14,15,18
A	<p>EP 0 387 775 A (BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL INC.) 19 septembre 1990 voir exemple 6</p>	10,14-16
A	<p>EP 0 388 758 A (BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL INC.) 26 septembre 1990 voir abrégé voir page 2, ligne 37 - page 5, ligne 17</p>	1,5,9, 10,15,16
A	<p>US 5 166 320 A (WU GEORGE Y. ET AL) 24 novembre 1992 voir le document en entier</p>	1,3,4, 9-11
A	<p>WO 92 11037 A (ADVANCED MAGNETICS INC) 9 juillet 1992</p>	2,3,9-15
A	<p>FR 2 107 756 A (HOFFMANN-LA ROCHE &amp; CIE SOCIETE ANONYME) 5 mai 1972</p>	6,7,11
A	<p>EP 0 350 246 A (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD) 10 janvier 1990</p>	16

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 97/02022

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2719316 A	03-11-95	AU 2412895 A	29-11-95
		CA 2187629 A	09-11-95
		EP 0753070 A	15-01-97
		WO 9530020 A	09-11-95
		US 5595897 A	21-01-97
-----			
WO 9213570 A	20-08-92	DE 4104186 A	13-08-92
		AT 142890 T	15-10-96
		DE 59207189 D	24-10-96
		EP 0571414 A	01-12-93
		ES 2094342 T	16-01-97
		JP 6504993 T	09-06-94
-----			
EP 0387775 A	19-09-90	AT 140961 T	15-08-96
		AU 637354 B	27-05-93
		AU 5130190 A	01-11-90
		CA 2012312 A	16-09-90
		DE 59010432 D	05-09-96
		ES 2090049 T	16-10-96
		HU 9500692 A	28-12-95
		IE 74850 B	13-08-97
		IL 93754 A	31-12-95
		JP 3130080 A	03-06-91
		NZ 232917 A	27-07-97
		PT 93440 A	07-11-90
		-----	
EP 0388758 A	26-09-90	AU 637085 B	20-05-93
		AU 5137290 A	20-09-90
		CA 2012311 A	16-09-90
		HU 9500693 A	29-01-96
		IL 93755 A	31-12-95
		JP 3200800 A	02-09-91
		NO 301932 B	29-12-97
		NZ 232918 A	27-07-97
		PT 93441 A,B	07-11-90
		RU 2098487 C	10-12-97
		US 5354844 A	11-10-94
-----			
US 5166320 A	24-11-92	US 5635383 A	03-06-97
		JP 63269985 A	08-11-88



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 97/02022

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9211037 A	09-07-92	AT 151991 T	15-05-97
		CA 2097589 A	20-06-92
		DE 69125848 D	28-05-97
		DE 69125848 T	31-07-97
		DE 563249 T	03-03-94
		EP 0563249 A	06-10-93
		ES 2059299 T	16-11-94
		JP 6503347 T	14-04-94
		US 5490991 A	13-02-96
		US 5554386 A	10-09-96
		US 5589591 A	31-12-96
		US 5478576 A	26-12-95
		US 5336506 A	09-08-94
FR 2107756 A	05-05-72	BE 772660 A	16-03-72
		DE 2146155 A	23-03-72
		GB 1316990 A	16-05-73
		NL 7112808 A	21-03-72
		US 3759890 A	18-09-73
EP 0350246 A	10-01-90	CA 1339300 A	19-08-97
		DE 68907139 T	02-12-93
		ES 2055067 T	16-08-94
		HU 9500499 A	30-10-95
		JP 2124814 A	14-05-90
		US 5271945 A	21-12-93

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

## PCT

REC'D 13 FEB 1999

WIPO PCT

### RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)



Référence du dossier du déposant ou du mandataire WOB96 IDM HIS	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR97/02022	Date du dépôt international (jour/mois/année) 10/11/1997	Date de priorité (jour/mois/année) 15/11/1996
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C12N15/88		
Déposant I.D.M. et al.		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 7 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
  - ☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 12/06/1998	Date d'achèvement du présent rapport 15.02.99
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international  Office européen des brevets D-80298 Munich Tel. (+49-89) 2399-0. Tx: 523656 epmu d Fax: (+49-89) 2399-4465	Fonctionnaire autorisé Pilat, D N° de téléphone (+49-89) 2399-8668 

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR97/02022

**I. Base du rapport**

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.*) :

**Description, pages:**

1-49                      version initiale

**Revendications, N°:**

1-19                      version initiale

**Dessins, feuilles:**

1/9-9/9                      version initiale

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description,    pages :  
☐ des revendications, n°s :  
☐ des dessins,            feuilles :

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR97/02022

**V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

**1. Déclaration**

Nouveauté	Oui : Revendications
	Non : Revendications 12,13
Activité inventive	Oui : Revendications
	Non : Revendications 1-11,14-19
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-13,16-19
	Non : Revendications 14,15

**2. Citations et explications**

**voir feuille séparée**

**VIII. Observations relatives à la demande internationale**

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

**voir feuille séparée**

1 Il est fait référence aux documents suivants:

D1 FR-A-2719316

D2 Mezö G. et al. Biopolymers, vol.33, n°6 1993, p.873-85

D3 Wang C. Y. et al. Vol.23 n° 19, 1984, p.4409-16

**Section V:** *Déclaration motivée selon la règle 66.2(a)(ii) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration*

**2) Nouveauté (Article 33 (2) PCT)**

2.1 D2 mentionne l'utilisation de Poly[Lys-(His<sub>i</sub>)] (voir table I et Fig.1). Ce polymère anticipe le conjugué polymérique des présentes revendications 12 et 13.

**3) Activité inventive (Article 33 (3) PCT)**

3.1 Le document D1 est considéré comme l'état de la technique le plus proche. Il décrit un complexe entre au moins un acide nucléique chargé négativement et au moins un conjugué polymérique chargé positivement. Le conjugué polymérique contient un polymère de motifs monomères portant des fonctions NH<sub>3</sub><sup>+</sup> libres. Ces fonctions NH<sub>3</sub><sup>+</sup> libres sont substituées dans un rapport d'au moins 10% par des résidus non chargés. Ces résidus comprennent au moins un groupe hydroxyles et ne correspondent à aucun signal de reconnaissance reconnu par un récepteur membranaire cellulaire (voir D1, revendication 1).

La différence entre D1 et l'objet de la présente revendication 1 est que ladite revendication se rapporte à des résidus protonables en milieu faiblement acide qui en sus comportent un groupe fonctionnel qui leur permet d'être fixés au polymère et ne doivent pas être reconnus par un récepteur membranaire cellulaire.

Le problème que se propose de résoudre la présente invention peut être celui de trouver un moyen alternatif à la chloroquine ou aux peptides perméabilisant de protéger le produit de transfection d'une dégradation lysosomale après endocytose.

D3 décrit les propriétés fusiogènes de la polyhistidine par rapport aux liposomes.

Ce phénomène de fusion est certainement lié au caractère polycationique de la polyhistidine à pH acide et à l'association de ce polycation avec les phospholipides membranaires qui induit une séparation de phase de la bicouche lipidique (voir D3, résumé). D3 mentionne aussi que le comportement fusiogène associé à la polyhistidine à pH réduit est plus efficace que celui associé au  $\text{Ca}^{2+}$  ou à la polylysine. En effet, un rapport de charge de seulement 0,2 ou inférieur entre la polyhistidine et le liposome permet de garantir une fusion efficace, alors qu'il doit excéder 0,7 pour le  $\text{Ca}^{2+}$  et être d'environ 1 pour la polylysine (voir p.4414 col.2 dernière phrase- p.4415 col.1 ligne 13; table IV). Enfin et surtout, ce document suggère que si l'interaction de segments hydrophobiques des glycoprotéines de l'enveloppe virale est une étape importante de la fusion, la protonation des résidus d'histidine des protéines virales à pH acide peut être un autre moyen de fusion (voir p.4415 dernier paragraphe).

Afin de résoudre le problème mentionné ci-dessus, l'homme du métier aurait évidemment combiné les enseignements de D1 et D3 et aurait donc substitué le polymère décrit dans D1 par des résidus histidines, à la place des résidus non chargés, et serait donc arrivé à la solution proposée dans la revendication 1 de la présente demande. Cette revendication 1 n'est donc pas inventive.

Le demandeur est prié de noter que les options introduites dans cette même revendication 1, c-à-d le rapport de substitution, la substitution des  $\text{NH}_3^+$  libres par des résidus non chargés qui possèdent au moins un groupe hydroxyle et éventuellement un signal de reconnaissance, sont des modes de réalisation que l'homme du métier aurait certainement envisagé selon les circonstances (voir aussi D1 revendication 1).

- 3.2 Les revendications 2-8 qui se rapportent à l'objet que la présente revendication 1, ayant des résidus protonables avec un pK inférieur à 8 (revendication 2), ayant des résidus qui appartiennent à la famille des composés qui comportent un noyau imidazole, à la famille de quinolines, des ptérines, pyridines (revendication 3), ayant des résidus qui sont des alkylimidazole (revendication 4), ayant des résidus choisis parmi l'histidines et dérivés imidazoles, (revendication 5), ayant des susdits motifs monomères ayant des fonctions  $\text{NH}_3^+$  libres substituées par un signal de reconnaissance (revendication 6), ayant un polymère qui contient une formule (I) ou une formule (II) et le groupement R représentant un résidu

comportant un noyau imidazole (revendication 7 et 8), sont toutes des revendications qui ne contiennent aucune caractéristique qui définisse un objet qui satisfasse aux exigences du PCT en ce qui concerne l'activité inventive. En effet, le complexe non inventif décrit ci-dessus (voir point 3.1 ci-dessus) prive les revendications 2 à 5 d'activité inventive.

En outre, le document D1 mentionne que le complexe peut être substitué par un signal de reconnaissance (voir D1, revendication 4), que le polymère comprend une formule (i) et (II) (voir D1, revendications 6 et 8). Ces modes de réalisations rendent donc les présentes revendications 6 à 8 évidentes.

- 3.3 La sélection des signaux de reconnaissance, la sélection d'acides nucléiques et la sélection des paramètres qui définissent le polymère, par exemple le rapport de substitution des  $\text{NH}_3^+$  libres des motifs lysines, la sélection de la masse moléculaire de l'acide nucléique et du nombre moyen de paires de base de l'acide nucléique par molécule de motif de monomère, sont des choix que la personne du métier aurait effectué selon le cas d'espèce (voir D1 revendications 11-13). Les revendications 9-11 ne comprennent donc pas d'activité inventive, à moins que le demandeur ne démontre que ces sélections sont associés à des effets inattendus.
- 3.4 Les utilisations, la méthode de transfection, la composition pharmaceutique ou le kit sont des applications connues dans l'art antérieur (voir D1, revendications 16 à 21). L'utilisation d'un complexe non inventif (voir points 3.1 à 3.3 ci-dessus) en remplacement du complexe décrit dans le document D1 n'implique par conséquent aucune activité inventive. Les revendications 14-19 sont donc évidentes.

### ***Section VIII : Observations relatives à la demande internationale***

#### **4) Clarté (Article 6 PCT)**

- 4.1 Il est signalé à la demanderesse que les expressions "de préférence", "par exemple", "tels que", "du genre de", "avantageusement", "notamment", "peuvent", "pouvant être", "éventuel" ou "éventuellement" n'ont pas d'effet limitatif sur la portée d'une revendication. Les caractéristiques qui suivent ou précèdent (pour

l'expression "éventuel(lement)") une telle expression sont donc considérées comme entièrement facultatives.

- 4.2 Les revendications 6 et 12 tentent de définir les résidus substituant les amines libres uniquement par une fonction de déstabilisation. Une telle caractérisation n'est pas claire, car elle ne permet pas d'identifier de manière précise les résidus qui satisfont à cette fonction et ceux qui n'y satisfont pas.
- 4.3 La revendication 1 utilise l'expression "faiblement acide". Eu égard aux Directives PCT, C-III, 4.5, la portée exacte de cette caractéristique est équivoque. La revendication n'est donc pas claire.

#### **5) Application industrielle (Article 33 (4) PCT)**

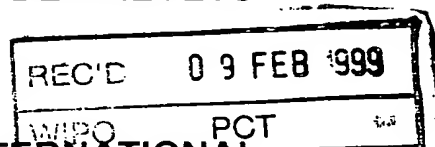
Il n'existe pas de critère unifié dans le PCT pour déterminer si les revendications 14,15 sont susceptibles d'application industrielle. La brevetabilité peut aussi dépendre de la manière dont les revendications ont été formulées. Ainsi, l'Office Européen des brevets ne considère pas comme susceptible d'application industrielle l'objet de revendications d'utilisation d'un composé à des fins médicales. Par contre, peuvent être acceptées des revendications relatives à un composé connu, pour une première utilisation à des fins médicales ainsi que des revendications relatives à l'utilisation d'un tel composé dans la fabrication d'un médicament en vue d'un nouveau traitement médical.



PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)





Référence du dossier du déposant ou du mandataire ONERA-Aff.295	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR97/02042	Date du dépôt international (jour/mois/année) 13/11/1997	Date de priorité (jour/mois/année) 27/12/1996
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C04B35/581		
Déposant ONERA - (OFFICE NATIONAL D'ETUDES ET DE ...) et al		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 5 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
  - ☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☐ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 14/07/1998	Date d'achèvement du présent rapport 05.02.99
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office Européen des brevets D-65298 Munich Tél. (+49-89) 2399-0 Tx: 523656 epmu d Fax: (+49-89) 2399-4465	Fonctionnaire autorisé Sala, P N° de téléphone (+49-89) 2399 8568 

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR97/02042

**I. Base du rapport**

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après *(les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.)* :

**Description, pages:**

1-10                      version initiale

**Revendications, N°:**

1-15                      version initiale

**Dessins, feuilles:**

1/1                        version initiale

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description,    pages :
- ☐ des revendications, n<sup>os</sup> :
- ☐ des dessins,            feuilles :

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR97/02042

**V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

**1. Déclaration**

Nouveauté	Oui : Revendications 1-13,15 Non : Revendications 14
Activité inventive	Oui : Revendications 1-13 Non : Revendications 15
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-15 Non : Revendications

**2. Citations et explications**

**voir feuille séparée**

Le présent rapport fait mention du document suivant cité dans le rapport de recherche:

D1= EP-A-469149

Le document suivant mis en évidence à partir des connaissances personnelles de l'examineur est cité dans cette opinion. Une copie est jointe en annexe au rapport:

D2= US-A-3833389

Revendications 1-13:

Les documents disponibles de l'art antérieur ne décrivent pas un procédé de fabrication d'une pièce à base de AlN ayant l'ensemble des caractéristiques revendiquées.

Le procédé tel que défini par cet ensemble de caractéristiques permet d'obtenir des pièces ayant une forme prédéterminée par usinage avec des instruments classiques sans diamant avant le frittage et d'obtenir une pièce dont les cotes seront conservées après frittage-réaction.

Il est donc considéré que la présente demande remplit les conditions énoncées dans les articles 33(2) et 33(3) PCT pour la nouveauté et l'activité inventive pour ces revendications.

Revendications 14 et 15:

Il est considéré dans cette opinion qu'un produit connu n'acquiert pas un caractère de nouveauté simplement par le fait qu'il est produit par un nouveau procédé. Des pièces formées essentiellement par du nitrure d'aluminium sont connues (par exemple de EP-A-469149, exemple 1), même si leur procédé de fabrication est différent. Il n'est pas possible de voir comment il serait possible de distinguer les pièces de la revendication 14 des pièces selon D1. L'indication que la pièce est "pratiquement exempte d'aluminium libre et de porosité ouverte" n'a qu'un caractère qualitatif et est susceptible d'interprétation selon les circonstances: il semble donc bien possible de définir une pièce obtenue selon D1 comme "pratiquement exempte d'aluminium libre et de porosité ouverte".

La revendication 14 de présente demande ne remplit donc pas les conditions énoncées dans l'article 33(2) PCT pour la nouveauté.

Il est connu d'une façon générale d'introduire des trichites dans les matériaux

céramiques dans le but d'en améliorer la ténacité (voir par exemple D2): l'introduction de trichites, par exemple de nitrure de silicium, dans le matériau céramique tel que décrit par D1 est donc une possibilité évidente. L'objet de la revendication 15 n'implique donc pas une activité inventive.

**PCT**ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE  
Bureau international

## DEMANDE INTERNATIONALE FILING EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> : <b>C12N 15/88, A61K 48/00</b>	<b>A1</b>	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 98/22610</b>
		(43) Date de publication internationale: 28 mai 1998 (28.05.98)

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR97/02022

(22) Date de dépôt international: 10 novembre 1997 (10.11.97)

(30) Données relatives à la priorité:  
96/13990 15 novembre 1996 (15.11.96) FR(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): I.D.M.  
IMMUNO-DESIGNED MOLECULES [FR/FR]; 172, rue  
de Charonne, F-75011 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): MIDOUX, Patrick  
[FR/FR]; 21, rue du Poinçon, F-45100 Orléans (FR).  
MONSIGNY, Michel [FR/FR]; 341, rue des Bouvreuils,  
F-45590 Saint-Cyr-en-Val (FR).(74) Mandataires: GROSSET-FOURNIER, Chantal etc.; Gros-  
set-Fournier & Demachy S.A.R.L., 103, rue La Fayette,  
F-75481 Paris Cedex 10 (FR).(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY,  
CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH,  
HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR,  
LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ,  
PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,  
TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH,  
KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ,  
BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE,  
CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL,  
PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,  
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée

*Avec rapport de recherche internationale.  
Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des  
revendications, sera republiée si de telles modifications sont  
reçues.***TITLE W**(54) Title: NOVEL POLYMERIC COMPLEXES FOR THE TRANSFECTION OF NUCLEIC ACIDS, WITH RESIDUES CAUSING THE DESTABILISATION OF CELL MEMBRANES

(54) Titre: NOUVEAUX COMPLEXES POLYMERIQUES POUR LA TRANSFECTION D'ACIDES NUCLEIQUES, AVEC DES RESIDUS DESTABILISANT DES MEMBRANES CELLULAIRES

## (57) Abstract

The invention concerns a complex between at least a (negatively charged) nucleic acid and at least a positively charged polymeric conjugate, the bond between the nucleic acid and the polymeric conjugate being electrostatic in nature, the polymeric conjugate containing a polymer formed by monomer units bearing free  $\text{NH}_3^+$  functions, and being such that: the free  $\text{NH}_3^+$  functions of said monomer units are substituted in a ratio of at least 10 % by residues causing in weak acid medium destabilisation of cell membranes, in particular the endocytosis vesicle membrane, and/or endosomes; said residues having further the following properties: they comprise a functional group for being fixed to said polymer, they are not active as recognition signal identified by a cell membrane receptor, they can comprise at least one free  $\text{NH}_3^+$  function; said uncharged residues having further the following properties: they comprise at least a hydroxyl group, they are not active as recognition signal identified by a cell membrane receptor, the hydroxyl groups of said uncharged residues being capable of being substituted by at least a molecule which constitutes a recognition signal identified by a cell membrane receptor, with reservation that the whole set of free  $\text{NH}_3^+$  functions is at least 30 % of the number of monomer units of the polymeric network of said polymeric conjugate.

## (57) Abrégé

L'invention concerne un complexe entre au moins un acide nucléique (chargé négativement) et au moins un conjugué polymérique chargé positivement, la liaison entre l'acide nucléique et le conjugué polymérique étant de nature électrostatique, le conjugué polymérique contenant un polymère formé de motifs monomères portant des fonctions  $\text{NH}_3^+$  libres, et étant tel que: les fonctions  $\text{NH}_3^+$  libres des susdits motifs monomères sont substituées dans un rapport d'au moins 10 %, par des résidus entraînant en milieu faiblement acide une déstabilisation des membranes cellulaires, notamment la membrane des vésicules d'endocytose, et/ou des endosomes; les susdits résidus possédant en outre les propriétés suivantes: ils comportent un groupe fonctionnel leur permettant d'être fixés au susdit polymère; ils ne sont pas actifs en tant que signal de reconnaissance reconnu par un récepteur membranaire cellulaire; ils peuvent comporter au moins une fonction  $\text{NH}_3^+$  libre; les susdits résidus non chargés possédant en outre les propriétés suivantes: ils comportent au moins un group hydroxyle; ils ne sont pas actifs en tant que signal de reconnaissance reconnu par un récepteur membranaire cellulaire; les groupes hydroxyles des susdits résidus non chargés pouvant être substitués par au moins une molécule qui constitue un signal de reconnaissance reconnu par un récepteur membranaire cellulaire, sous réserve que l'ensemble des fonctions  $\text{NH}_3^+$  libres soit d'au moins 30 % du nombre des motifs monomères du squelette polymérique du susdit conjugué polymérique.

A++ #4

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

fre

10

Translation

Applicant's or agent's file reference WOB96 IDM HIS	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR97/02022	International filing date (day/month/year) 10 November 1997 (10.11.1997)	Priority date (day/month/year) 15 November 1996 (15.11.1996)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/88, A61K 48/00		
Applicant I.D.M. IMMUNO-DESIGNED MOLECULES		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 12 June 1998 (12.06.1998)	Date of completion of this report 15 February 1999 (15.02.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP European Patent Office D-80298 Munich, Germany Facsimile No. 49-89-2399-4465	Authorized officer  Telephone No. 49-89-2399-0

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR97/02022

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-49, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☒ the claims, Nos. 1-19, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/9-9/9, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/FR 97/02022

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims		YES
	Claims	12, 13	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-11, 14-19	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-13, 16-19	YES
	Claims	14, 15	NO

## 2. Citations and explanations

## 1. The following documents are referred to herein:

D1: FR-A-2719316

D2: Mezö G. et al., Biopolymers, vol. 33, no. 6,  
1993, pages 873-885D3: Wang C.Y. et al., Biochemistry, vol. 23, no. 19,  
1984, pages 4409-4416

## 2. Novelty (PCT Article 33(2))

2.1 D2 mentions the use of Poly[Lys-(His<sub>i</sub>)] (see table I and figure 1). This polymer anticipates the polymeric conjugate of the present claims 12 and 13.

## 3. Inventive step (PCT Article 33(3))

3.1 Document D1, which is considered to be the closest prior art, describes a complex between at least one negatively charged nucleic acid and at least one positively charged polymeric conjugate. The polymeric conjugate contains a polymer of monomeric units with free NH<sub>3</sub><sup>+</sup> functions. The free NH<sub>3</sub><sup>+</sup> functions are substituted, with a ratio of at least 10 %, by non-charged residues. The residues include

at least one hydroxyl group and do not correspond to any recognition signal recognised by a cell membrane receptor (see D1, claim 1).

The difference between D1 and the subject matter of the present claim 1 is that said claim relates to residues that are protonatable in a weakly acidic medium and further comprise a functional group enabling them to be bound to the polymer while not being recognised by a cell membrane receptor.

The problem that the present invention aims to solve may be that of finding a means other than chloroquine or permeabilising peptides for protecting the transfection product of a lysosomal decomposition following endocytosis.

D3 describes the fusion-mediating properties of polyhistidine relative to liposomes.

The phenomenon of fusion is definitely linked to the polycationic nature of polyhistidine having an acid pH, and to the combination of the polycation with membrane phospholipids that induces phase separation in the dual lipid layer (see D3, abstract). D3 also mentions that the fusion-mediating behaviour associated with polyhistidine having a low pH is more effective than the one associated with  $\text{Ca}^{2+}$  or polylysine. Indeed, a charge ratio of only 0.2 or less between the polyhistidine and the liposome enables effective fusion to be ensured, whereas it must exceed 0.7 with  $\text{Ca}^{2+}$  and be of around 1 with polylysine (see page 4414, column 2, last sentence to page 4415, column 1, line 13; table IV). Finally and most importantly, this document suggests that if the interaction between the hydrophobic segments of viral envelope glycoproteins is an important step in the fusion process, the protonation of the histidine residues of the viral protein with an acidic pH may

be an alternative fusion means (see page 4415, last paragraph).

In order to solve the above-mentioned problem, a person skilled in the art would obviously have combined the teachings of D1 and D3 and would thus have replaced the polymer described in D1 with histidine residues, instead of the non-charged residues, thereby arriving at the solution proposed in claim 1 of the present application. Therefore, claim 1 is not inventive.

The applicant's attention is drawn to the fact that the options present in claim 1, namely the substitution ratio, the substitution of the free  $\text{NH}_3^+$  by non-charged residues having at least one hydroxyl group and optionally a recognition signal, are embodiments that a person skilled in the art would certainly have contemplated, depending on the circumstances (see also D1, claim 1).

- 3.2 Claims 2-8 relating to the subject matter of the present claim 1, having protonatable residues with a pK lower than 8 (claim 2), having residues belonging to the family of compounds that comprise an imidazole ring, and the quinoline, pterin and pyridine families (claim 3), having residues that are alkylimidazoles (claim 4), having residues selected from histidines and imidazole derivatives (claim 5), having said monomeric units with free  $\text{NH}_3^+$  functions substituted by a recognition signal (claim 6), having a polymer containing a grouping of formula (I) or formula (II), where grouping R is a residue comprising an imidazole ring (claims 7 and 8), are all claims that do not contain any features which might define subject matter that complies with

the requirement of inventive step of the PCT.

Indeed, the non-inventive complex described above (see point 3.1 above) deprives claims 2 to 5 of an inventive step.

Furthermore, document D1 mentions that the complex may be substituted by a recognition signal (see D1, claim 4), and the polymer includes a grouping of formula (I) or (II) (see D1, claims 6 and 8). These embodiments thus render the present claims 6 to 8 obvious.

- 3.3 The selection of recognition signals, the selection of nucleic acids and the selection of the defining parameters of the polymer, e.g. the substitution ratio of the free  $\text{NH}_3^+$  of the lysine units, the selection of the molecular weight of the nucleic acid and the average number of base pairs of the nucleic acid per monomeric unit molecule, are options that a person skilled in the art could have selected, depending on each particular case (see D1, claims 11-13). Therefore, unless the applicant can demonstrate that these selection are linked to unexpected effects, claims 9-11 do not involve an inventive step.

- 3.4 The uses, the transfection method, the pharmaceutical composition or the kit are applications known from the prior art (see D1, claims 16-21). Therefore, the use of a non-inventive complex (see points 3.1 and 3.3 above) instead of the complex described in document D1 does not involve an inventive step, and claims 14-19 are obvious.

## VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

**Clarity (PCT Article 6)**

1. The applicant is informed that the expressions "preferably", "e.g.", "such as", "of the kind", "particularly", "may", "may be", "optional" and "optionally" have no limiting effect on the scope of a claim. The features that come after or before (in the case of "optional(ly)") such an expression are thus considered to be entirely optional.
2. Claims 6 and 12 attempt to define the residues substituting the free amines solely in terms of a destabilising function. Such a characterisation is unclear, as it does not enable precise identification of the residues that have this function and those that do not.
3. Claim 1 uses the expression "weakly acidic". Under the terms of the PCT Guidelines, C-III, 4.5, the exact scope of this feature is ambiguous. Therefore, the claim is unclear.

**4. Industrial applicability (PCT Article 33(4))**

There are no uniform criteria in the PCT for determining whether claims 14 and 15 are industrially applicable. Patentability may also be dependent on the way in which the claims are worded. Therefore, the European Patent Office does not consider the subject matter of claims relating to the medical use of a compound to be industrially applicable. However, claims relating to a known compound, for a first medical use, will be accepted, as will claims relating to the use of such a compound for producing a drug with a view to a novel medical treatment.